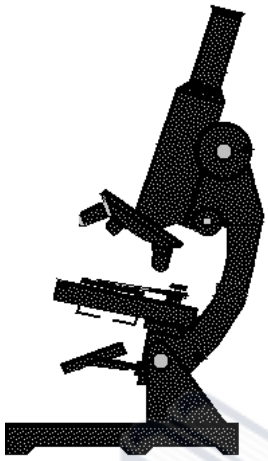
UNIVERSITE DE NOUAKCHOTT

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



TRAVAUX PRATIQUES DE BIOLOGIE CELLULAIRE

Biologie-Géologie 1

exosup.com

Elaboré par : Ali O. Med Salem O. BOUKHARY

2007-2008

exosup.com page facebook

S O M M A I R E

Recommandations importantes

Séance I : Microscopie

TP 1. Présentation du microscope photonique : Principe, utilisation et application

Séance II : La Cellule et ses organites

TP 2. Etude microscopique de cellules végétales
TP 3. Etude microscopique de cellules animales

TP 4. Observation des plastes

TP 5. Ultra structure de quelques organites cellulaires

Séance III : La division cellulaire chez les eucaryotes, la mitose

TP 6. Réalisation de préparations microscopiques de mitose

Séance IV : Osmose et perméabilité cellulaire

TP 7. Mise en évidence des mouvements de l'eau dans la cellule végétale

RECOMMANDATIONS IMPORTANTES

Les étudiants sont priés de :

- Arriver à l'heure pour ne pas perturber le déroulement de la séance ;

- Travailler par binôme ;

- Porter une blouse blanche propre ;

- Préparer la séance de TP : lire attentivement le texte du fascicule correspondant à la manipulation du jour ;

- Nettoyer sa paillasse à la fin de chaque séance.

- Se munir de matériel de dessin : feuilles de dessin blanches non quadrillées format A4, crayon graphite HB, gomme, taille, règle, compat., boite de couleur.

Réalisation des copies

- Les copies doivent être réalisées entièrement au crayon ;

- Sur chaque feuille doit figurer :

en haut et à gauche votre nom et prénom, votre numéro de groupe,

en haut et à droite la date

au milieu le thème et le titre du TP

- Ne jamais dessiner recto-verso, une seule face du papier doit être employée pour une bonne présentation ;

- D'une façon générale, le dessin doit reproduire fidèlement l'image que donne le microscope (agrandir l'image en lui conservant ses proportions et sa disposition) et donner la valeur du grossissement ;

- Deux dessins par feuille au maximum ;

- Tout dessin doit être accompagné d'une légende complète, sinon le travail n'a aucune valeur. Les flèches doivent être, dans la mesure du possible, toutes situées du même côté du dessin à droite en général et dirigées vers le dessin, les écrire horizontalement. Les flèches doivent être tracées à la règle et parallèlement les unes aux autres.

exosup.com page facebook

Séance I
Microscopie

TP1. PRÉSENTATION DU MICROSCOPE PHOTONIQUE

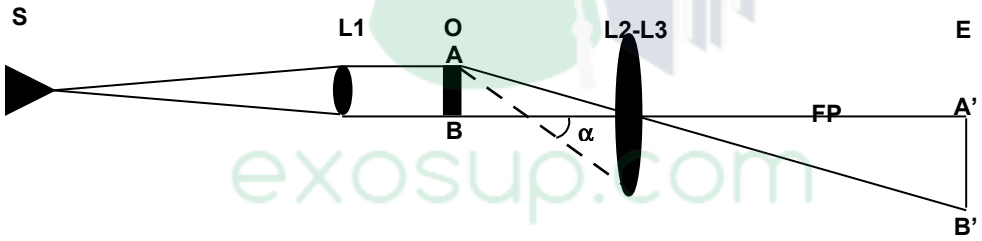
I. DÉFINITION

C'est un instrument d'optique qui permet d'observer des objets très minces (qui peuvent être traversés par la lumière) en les grossissant (15 à 1800 fois). L'objet à observer appelé **préparation** est entre une lame et une lamelle de verre.

Il existe d'autres microscopes, dits **microscopes électroniques**, qui permettent des grossissements plus importants.

II. PRINCIPE PHYSIQUE DU MICROSCOPIE (VOIR : COURS BIOLOGIE CELLULAIRE)

Le microscope photonique utilisent un flux ondulatoire de particules (FP) non chargées, les *photons*, au travers d'un système de lentilles (L1, L2 et L3) de manière à former d'un objet (O) à étudier (AB) une image agrandie (A'B') sur un écran E



S : source de lumière

L1 : lentille condensatrice

O : objet à étudier de dimension AB

α : Demi-angle d'ouverture de l'objectif

L2, L3 : respectivement l'objectif et l'oculaire

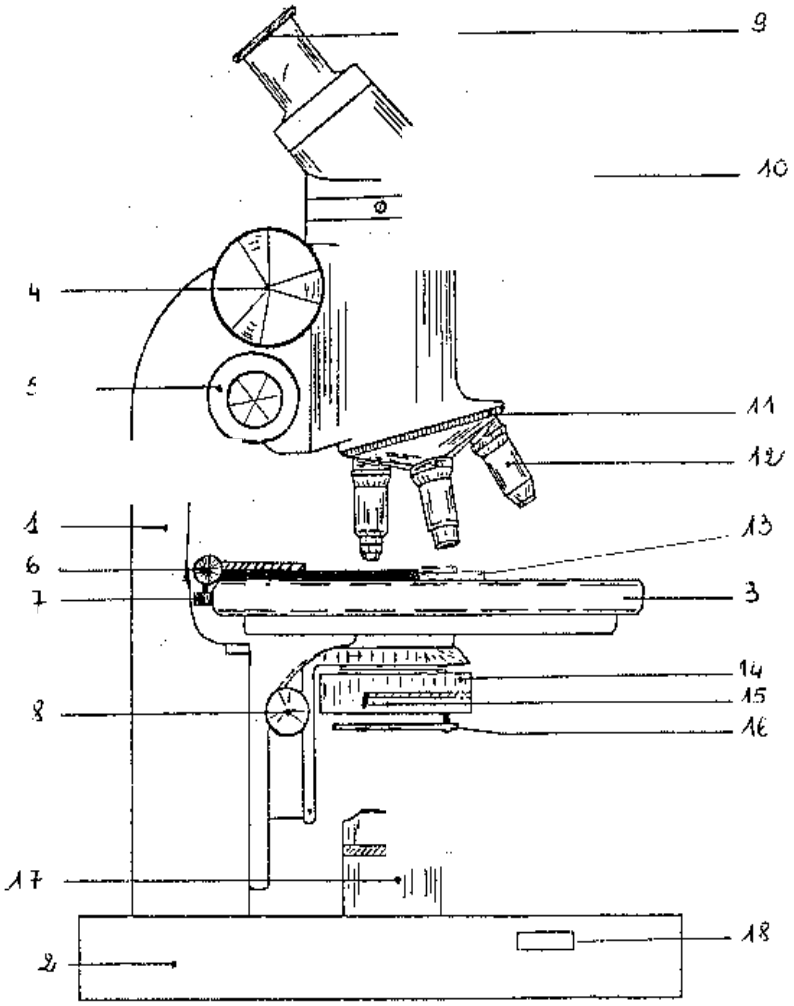
FP : faisceau de particule

E : écran permettant de voir l'image A'B' obtenue de l'objet O à étudier.

III. LES DIFFÉRENTES PARTIES DU MICROSCOPE PHOTONIQUE ET LEURS RÔLES

exosup.com page facebook

LE M COPE



Les différentes parties du microscope :

I. Parties statiques

1 : La potence **2 :** Pied ou socle **3** : Platine

II. Parties mobiles

4 : Vis macromètrique **5** : Vis micromètrique **6** : Vis de déplacement avant – arrière (vernier) **7** : Vis de déplacement droite – gauche (vernier) **8** : Vis de déplacement haut-bas du condenseur

III. Parties optiques

9 : Oculaire **10** : Porte oculaire **11** : Revolver **12** : Objectifs **13** : Préparation (lame)

IV. Éclairage

14 : Condenseur **15** : Diaphragme **16** : Porte filtre **17** : Lampe **18** : Interrupteur

On peut classer les différentes parties d'un microscope selon leur fonction en cinq catégories :

1. Fonction de maintien de la préparation : le maintien de la préparation microscopique est assuré par **la platine** et les deux **valets**.

2. Fonctions de grossissement de la préparation : on distingue dans cette catégorie les éléments suivants :

2.1. L'oculaire grossit la préparation comme une loupe. Un chiffre gravé dessus indique son pouvoir grossissant (ex : X12).

2.2. Les objectifs : Ils sont en général au nombre de 3 et situés à l'extrémité inférieure du **tube optique.** Ils complètent le système grossissant. Sur chacun d'eux, un chiffre indique le pouvoir grossissant (ex. x40, x100). Pour en changer, il suffit de tourner **le revolver**.

3. Fonction d'éclairage de la préparation : l'éclairage de la préparation microscopique est assuré par une **lampe** halogène qui envoie la lumière vers la préparation microscopique via le condenseur. La lumière traverse l'objet et "emporte" son image vers des lentilles de verre (placées dans l'objectif et l'oculaire) qui l'agrandissent. C'est en plaçant son oeil sur l'oculaire que l'on voit cette image.

4. Fonction de mise au point : La mise au point s'effectue en tournant la **vis macrométrique** qui permet les mouvements rapides et importants du tube optique.

Cette mise au point est souvent complétée par l'utilisation de **la vis micrométrique** dont la rotation assure des mouvements très lents (invisible à l'oeil nu) du tube optique.

5. Fonction de soutien : La **potence** supporte l'ensemble des pièces du microscope (tube optique, platine et miroir). Souvent, il est possible de l'incliner par rapport à la **base** ou **socle** qui reste fixe et qui maintient le microscope sur la table.

IV. MODE D'EMPLOI DU MICROSCOPE

1 - PRENDRE LE MICROSCOPE :

Le microscope est pris sans mouvement brusque par la **potence** ou poignée une main sous le **socle**. Il ne faut pas pencher le microscope au risque de faire tomber l'**oculaire** à l'extrémité du **tube optique**.

2- UTILISER LE MICROSCOPE :

étape n°1 : Régler la lumière.

Il faut orienter la lumière vers le miroir de façon à ce que la lumière soit dirigée dans l'axe du tube optique. Le diaphragme permet de régler l'intensité de la lumière pendant l'observation.

étape n°2 : Placer la lame.

La lame se glisse sur la platine, sous les ressorts, de telle façon que la partie que nous désirons observer, soit au dessus et placée au milieu du trou central. Si la préparation est munie d'une étiquette, celle-ci doit être visible.

étape n°3 : Choisir les objectifs.

Une observation doit toujours commencée par le plus petit objectif (celui qui a le moins fort grossissement). Cela permet de trouver le meilleur endroit à observer .

étape n°4 : Faire la mise au point. Procéder comme suit :

- Régler la netteté :

Grâce à la vis macrométrique (grosse vis) il faut descendre les objectifs au plus bas sans regarder dans l'oculaire pour ne pas casser la lame. Ensuite il faut remonter tout doucement les objectifs jusqu'à ce que l'image soit nette. La petite vis (vis micrométrique permet un réglage plus fin pour des objectifs plus forts)

- Déplacer la lame :

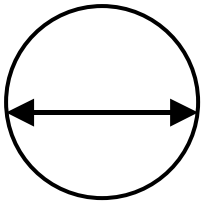
Le déplacement apparent de la lame se fait en sens inverse du déplacement réel, c'est-à-dire que si tu pousses la lame vers la droite, l'image se déplacera vers la gauche.

3 - RANGER LE MICROSCOPE :

Lorsque nos observations sont terminées, nous rangeons le microscope afin qu'il ne prenne pas la poussière. Il doit être maintenu très propre et si besoin est, nous essuierons la poussière qui aurait pu se déposer sur les lentilles, avec un chiffon doux imprégné d'alcool.

V. NOTIONS THÉORIQUES

- **Un champ microscopique** ou champ d'observation est la zone d'observation éclairée qui apparaît au manipulateur lors d'une observation au microscope :



Diamètre du champ microscopique

Le diamètre du champ microscopique est fonction de l'objectif utilisé : il est donc nécessaire de le connaître pour chacun des objectifs que l'on utilise. Ceci permet d'estimer la taille des objets que l'on observe.

- <u>Grossissement</u>: Le grossissement d'un objet est le produit du grossissement de l'objectif par celui de l'oculaire: on note par exemple: G=10x60 ou (x 600).

- <u>Pouvoir de séparation ε ou limite de résolution</u>

Le pouvoir séparateur ou **limite de résolution** est la plus petite distance séparant deux objets que l'on peut distinguer à l'aide du microscope: elle dépend de la qualité des lentilles et de la nature même de la lumière: elle est au maximum de 0,2 µm.

$$\varepsilon = \frac{0.61\ \lambda}{n \sin \alpha}$$

Où, 0,61 = constante

λ = longueur d'onde du rayonnement utilisé

α = demi angle d'ouverture de l'objectif

n = indice de réfraction du milieu transparent qui sépare l'objet de l'objectif (l'air ou l'huile à immersion)

On peut augmenter **ε** en plaçant une goutte **d'<u>huile à immersion</u>** (huile incolore dans laquelle la lumière se propage à la même vitesse que dans le verre) sur la préparation: on réalise alors une observation "**à l'immersion**", l'huile remplaçant l'air entre l'objet et l'objectif.

VI. <u>APPLICATIONS</u> :

<u>1. Détermination du diamètre du champ microscopique</u>

- Découper un morceau de papier millimétré d'environ 1 cm par 1 cm, et le coller sur une lame de verre avec du ruban adhésif. Observer le papier avec les objectifs x4, x10, puis x40.

- En utilisant comme référence, le quadrillage du papier millimétré (1 carreau = 1 mm), estimer pour chaque objectif, le diamètre d'un champ d'observation (en mm et en µ m). Pour cela remplir le tableau ci-dessous :

Grossissement oculaire	Grossissement objectif	Grossissement total	Diamètre du champ microscopique (mm)
X10	Faible grossissement X4		n
X10	Moyen grossissement X10		(40/100)xn = n'
X10	Fort grossissement X40		(40/400)xn = n''

Conclure.

2. Le pouvoir de séparation :

2.1. Dessiner sur un morceau de papier millimétré deux points très rapprochés qui vous paraissent confondus ; coller le morceau sur une lame avec du ruban adhésif.

2.2. Observer aux deux objectifs x10 et x40. Qu'observez-vous ?

Conclure

exosup.com

exosup.com page facebook

Séance II

La cellule et ses organites

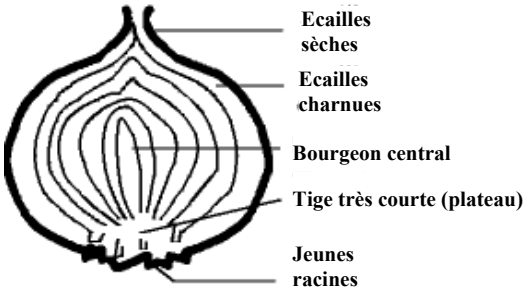
TP 2. ETUDE MICROSCOPIQUE DE CELLULES VEGETALES

OBSERVATION D'UN ÉPIDERME D'OIGNON (*ALLIUM CEPA* L.)

1. Introduction

L'observation d'un fragment d'épiderme « interne » du bulbe d'oignon permet de prendre connaissance de l'essentiel de la structure de la cellule végétale.

Le bulbe d'oignon montre, lorsqu'il est coupé verticalement, une tige très courte appelée plateau qui porte un faisceau de racines adventives et des écailles emboîtées les unes dans les autres. Les plus externes sont desséchées, les autres sont gorgées de réserves. Dans l'axe, le bourgeon central est enveloppé d'écailles minces.

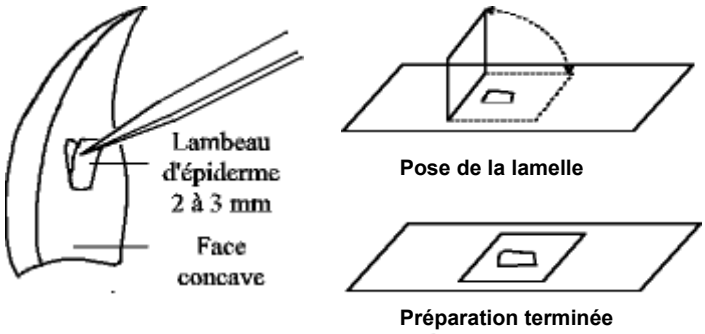


2. Matériel et réactifs

Microscope, lames, lamelles, 1 oignon, 1 couteau, pinces fines, 2 verres de montre pour chaque paillasse, solution de rouge neutre à 1g/L (Dissoudre 0,1g de rouge neutre dans 100 ml de tampon phosphate à pH 6,5 : la pénétration du rouge neutre dans les cellules n'est possible qu'à ce pH), solution d'eau iodo-iodurée ou lugol (4g d'iode, 8g de KI dans 1L d'eau distillée), cristallisoir avec eau de Javel pour lames et lamelles usagées

3. Préparation des lames

- On prépare simultanément 2 colorants dans 2 verres de montre :
  - Rouge neutre
  - Solution d'eau iodo-iodurée
- A l'aide de pinces fines, on prélève de petits lambeaux d'épiderme sur la face concave d'une écaille d'oignon. On les place immédiatement dans les solutions colorées (2 ou 3 dans chaque verre de montre).
- Sur une première lame, on dépose 1 goutte de la solution de rouge neutre et on y place 1 ou 2 lambeaux. On recouvre d'une lamelle.
- On fait de même avec la 2ème lame et la solution d'iode.



4. Observations (objectifs x10, x40)

4.1. Coloration au rouge neutre (coloration vitale)

Le rouge neutre pénètre dans la cellule sans la tuer : c'est un colorant vital.

- Chercher a l'objectif la plus faible, une image nette de la préparation et placer une cellule au centre du champ du microscope.

- Passer au fort grossissememt (400X)

- Dessiner, Mettre un titre et une légende et décrire vos observations : coloration, forme des cellules, présence de vacuoles, noyau et nucléoles, paroi pecto-cellulosique etc.

4.2.Coloration à l'iode (coloration post-vitale)

L'iode tue la cellule en provoquant la coagulation du cytoplasme et du noyau (c'est un fixateur) et en teintant en jaune certains éléments.

Procéder comme dans 4.1

TP 3. ETUDE MICROSCOPIQUE DE CELLULES ANIMALES

1. OBSERVATION DES CELLULES DE FOIE (HÉPATOCYTES)

1.1. Généralités

Un matériel pratique pour l'observation microscopique des cellules animales est constitué par le foie frais. On peut utilisé indifféremment du foie de mouton, veau ou poulet. La seule contrainte dont il faut tenir compte est que le foie ne doit pas avoir été congelé.

1.2. Matériel et réactifs

- Morceau de foie, microscopes, lame et lamelles, spatule, papier essuie-tout, glycérol, bleu de méthylène 0,01% (Dissoudre 100 mg de bleu de méthylène en poudre dans 100 mL d'eau distillée).

1.3. Mode opératoire

- Couper un petit morceau de foie et gratter avec une spatule la surface de la section de façon à déposer sur une lame de microscope un échantillon de la taille d'une lentille au maximum.
- Dissocier au mieux les cellules avec la spatule puis recouvrir d'une goutte de bleu de méthylène.
- Laisser agir environ une minute.
- Déposer une goutte de glycérol et bien mélanger avec la spatule.

Le glycérol rend possible l'observation de la préparation pendant une longue durée sans risquer l'évaporation du milieu de montage.

- Poser une lamelle sur l'échantillon et placer l'ensemble sur une feuille de papier essuie-tout.
- Utiliser une autre feuille pour presser fermement sur la lamelle de façon à dissocier les cellules en prenant garde de ne pas casser la lamelle.

Le papier sert à essorer le trop plein de liquide qui s'échappe lors du pressage.

- Essuyer soigneusement la surface de la lamelle et observer au microscope.
- Rechercher les régions de la préparation où les cellules sont dissociées et suffisamment colorées pour faciliter leur observation.

1.4. Résultats

Dessiner, mettre un titre et une légende et décrivez vos observations :

- Forme et taille des hépatocytes, forme et nombre de noyaux par cellule, présence de nucléole, présence de granulations etc.

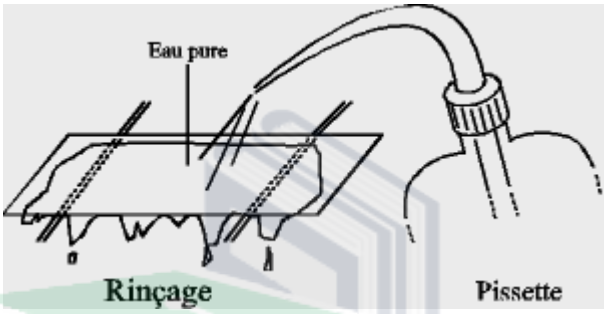
2. OBSERVATION DES CELLULES DE L'ÉPITHÉLIUM BUCCAL

2.1. Matériel

Microscope, lames, lamelles, hématoxyline-éosine ou bleu de méthylène, pissette avec eau ordinaire, compte gouttes, cuve à coloration, cristallisoir avec eau de Javel pour lames et lamelles usagées, bec Bunsen.

2.2. Prélèvement et coloration

- Se rincer d'abord, la bouche a l'eau
- Frotter avec un doigt propre, la paroi interne de la joue.
- Déposer le produit recueilli sur une lame et la placer sur le support de la cuve à coloration.
- Recouvrir sans attendre avec quelques gouttes d'hématoxyline-éosine ou de bleu de méthylène
- Rincer à l'eau après 5 minutes.
- Avec un papier absorbant, essuyer le dessous et le pourtour de la lame.
- Recouvrir la préparation d'une lamelle et placer la lame sur la platine du microscope.



2.3. Observations

Dessiner, mettre un titre et une légende et décrivez vos observations :

Fort grossissement: coloration de différents compartiments cellulaires, présence de granulations, aspect et taille des cellules, aspect de la membrane cellulaire, etc.

Remarques

- Si la préparation est bonne, on peut observer un ou deux grains brillants dans le noyau. Il s'agit des **nucléoles** (ensemble de fibrilles et granules, producteurs de ribosomes).
- En réalité, ces cellules constituent un tissu (elles sont jointives). On peut les observer isolées, car au frottement, elles ont été détachées de ce tissu.

Enfin, dresser un tableau récapitulatif des caractères distinctifs morphologiques et structuraux des cellules animales et végétales

exosup.com page facebook

TP 4. OBSERVATION DES PLASTES

Les plastes sont des organites intracellulaires présents exclusivement chez les cellules végétales. Ils renferment, selon les cas, des substances comme la chlorophylle, la carotène, l'amidon …etc. On distingue ainsi, les amyloplastes, les chromoplastes et les choloroplastes.

I. LES AMYLOPLASTES

Les amyloplastes (du grec "*amulon*" qui signifie amidon) sont des organites qui renferment l'amidon. L'amidon est une substance de réserve très répandue chez les plantes (les animaux n'en fabriquent pas), accumulée dans des plastes spéciaux qui se transforment progressivement en grains d'amidon.

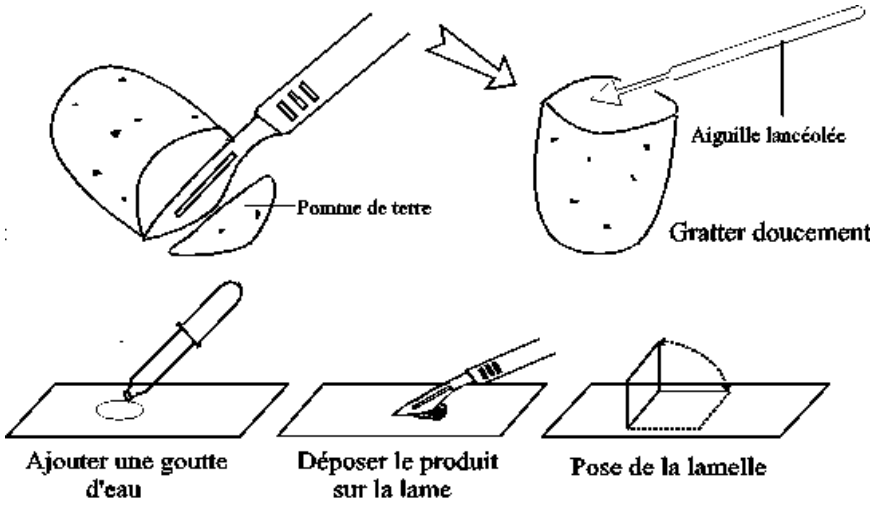
Remarque : Les fécules (pomme de terre, maïs, manioc ...) sont des amidons.

1. Matériel et réactifs

- Microscope, lames, lamelles, coton, un cristallisoir (avec eau de Javel) pour lames et lamelles usagées.
- Colorant : solution très diluée de lugol.
- 1 aiguille lancéolée, 1 assiette porcelaine ou plastique, 1 pissette avec eau de conduite.
- Pomme de terre ***(SOLANUM TUBEROSUM)***.

2. Préparation de la lame

- Sur un petit morceau d'une pomme de terre, on gratte doucement la pulpe avec une aiguille lancéolée.
- On place une goutte d'eau sur une lame puis on y dilue le produit recueilli.
- On recouvre ensuite d'une lamelle (en évitant la formation de bulles d'air).



3. Observation sans coloration

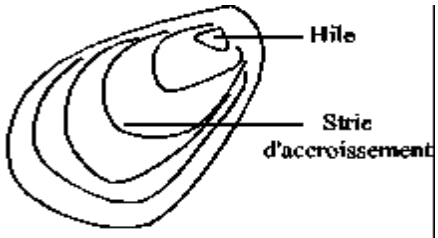
Dessiner, mettre un titre et une légende. On distingue nettement les **grains d'amidon ou amyloplastes et leurs stries d'accroissement** autour d'un point central : **le hile**.



Au moyen grossissement
(x120)

4. Observation avec coloration

On refait une préparation et on ajoute une goutte d'eau iodée très diluée. Les amyloplastes se colorent en bleu violet (c'est une réaction caractéristique).



Amyloplaste x 400

II. Les chloroplastes

Comme les amyloplastes, les chloroplastes sont des organites des cellules végétales qui contiennent la chlorophylle (*Chloros* = vert ; *phullon* = feuille). Les feuilles du bourgeon terminal d'une élodée (plante aquatique répandue dans les cours d'eau et étangs) se prête bien à l'observation des chloroplastes. Cependant, dans notre manipulation, nous utiliserons des feuilles d'épinards ou du poivron vert.

1. Matériel

- Microscope, lames, lamelles, un cristallisoir avec eau de Javel, pince fine, lame bistouri, poivron vert ***(Capsicum annuum)*** ou feuilles d'épinards.

2. Préparation de la lame

Avec une pince fine, on pratique une coupe fine dans la couche externe du poivron et on la place entre lame et lamelle, dans une goutte d'eau.

3. Observation (objectifs x10, x40)

Décrire vos observations au faible, moyen et fort grossissement : aspect des cellules, les constituants cellulaires observés, la membrane plasmique, aspect du cytoplasme, forme de la vacuole, position du noyau, aspect et abondance des chloroplastes.

III. Les chromoplastes

Ce sont des organites cellulaires qui contiennent des pigments caroténoïdes (pigments jaune, rouge ou orangé). La tomate, le poivron jaune, la carotte sont riches en chromoplastes.

1. Matériel

- Microscope, lames, lamelles, coton, un cristallisoir avec eau de Javel, pince fine, lame bistouri, poivron rouge ou tomate

2. Préparation de la lame

Même protocole que la manipulation précédente

3. Observation (objectifs x10, x40)

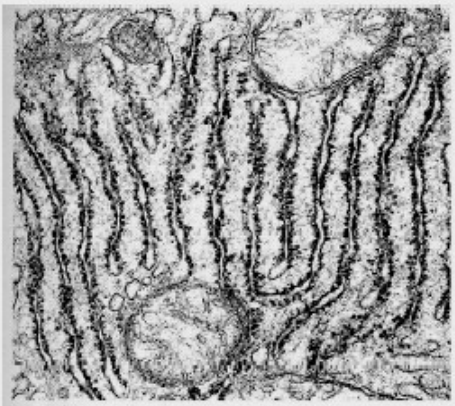
Décrire vos observations au faible, moyen et fort grossissement : aspect des cellules, les constituants cellulaires observés, la membrane plasmique, aspect du cytoplasme, forme de la vacuole, position du noyau, aspect et abondance des chromoplastes.

TP 5 – ULTRASTRUCTURE DE QUELQUES ORGANITES CELLULAIRE

Cette séance porte sur l'observation de schémas pris au microscope électronique de quelques organites cellulaires. Il s'agit de :

1. l'appareil de golgi
2. le noyau
3. la mitochondrie
4. le réticulum endoplasmique

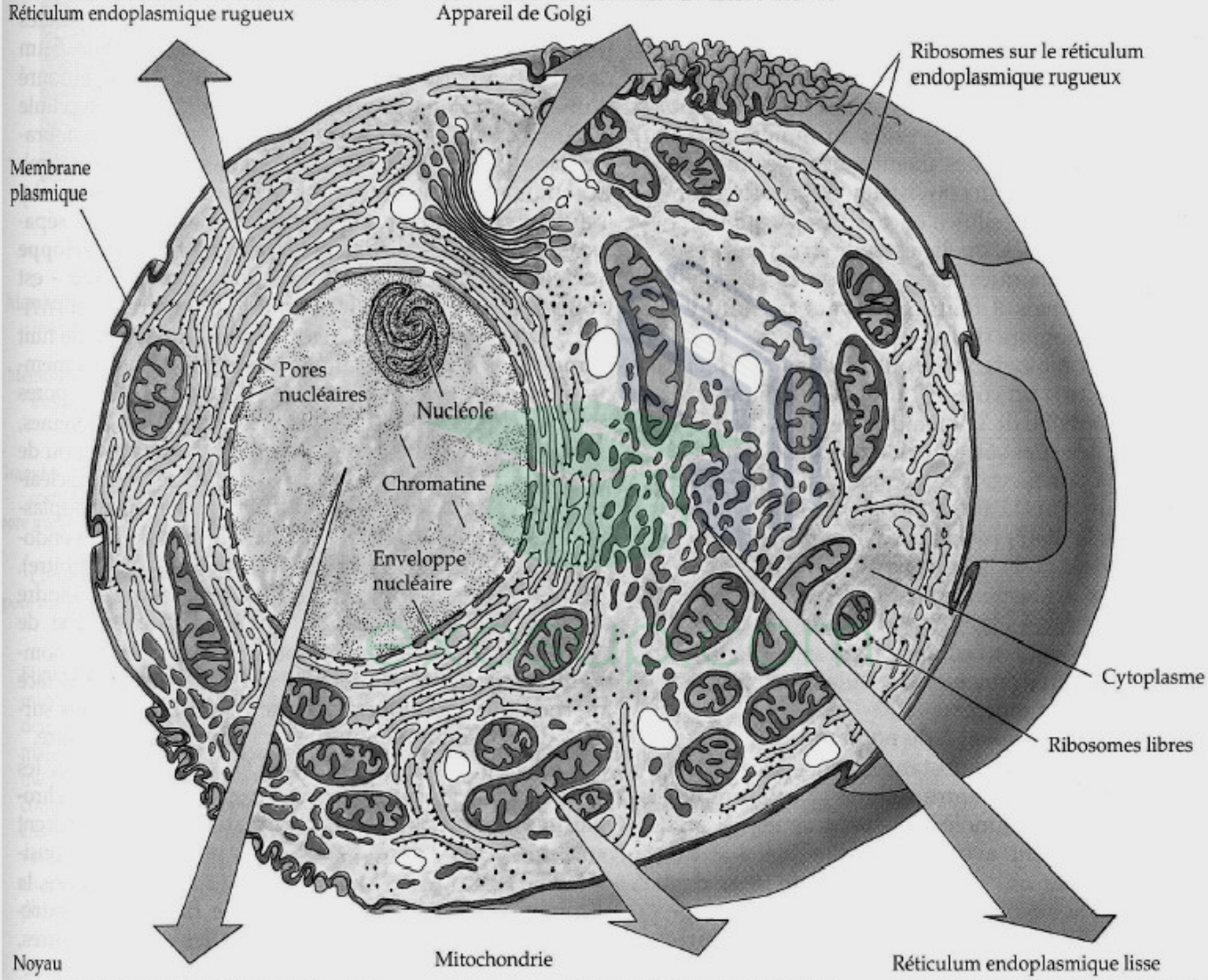
Voir figure ci-dessous.



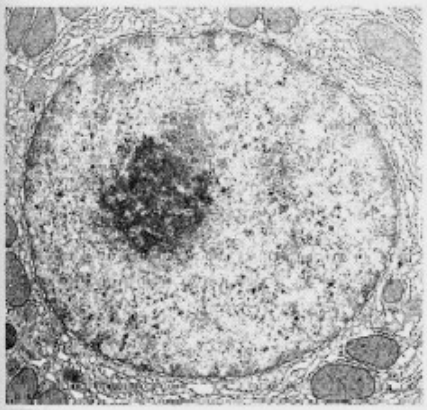
Réticulum endoplasmique rugueux



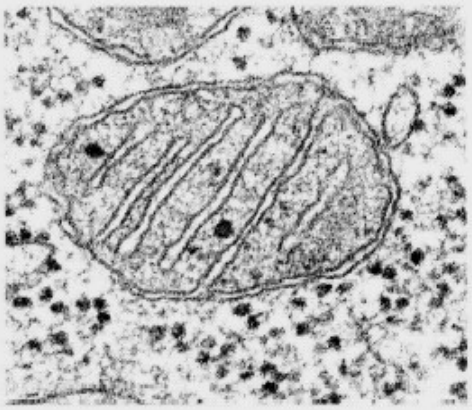
Appareil de Golgi



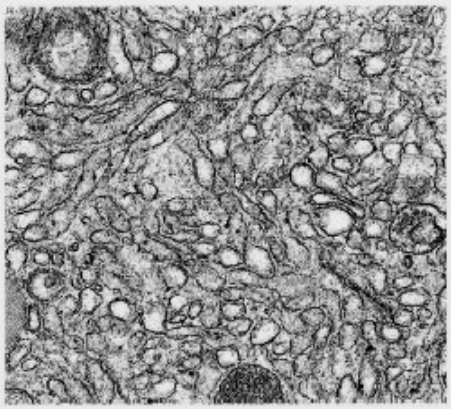
Noyau



Mitochondrie



Réticulum endoplasmique lisse

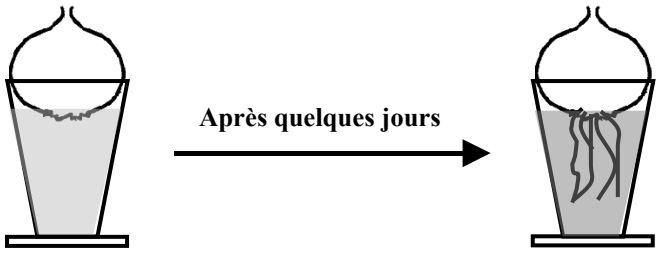


exosup.com page facebook

Séance III
La division cellulaire chez les eucaryotes, la mitose

TP 6. RÉALISATION DE PRÉPARATIONS MICROSCOPIQUES DE MITOSE

Pour observer les différentes phases de la mitose et les chromosomes, un matériel biologique simple et facile à obtenir est constitué par les jeunes racines obtenues à la base de bulbes de diverses plantes (ail, oignon). Lorsque l'on place ces bulbes sur un récipient de manière à ce que leur base baigne dans l'eau, des racines se développent en quelques jours.



La croissance est rapide (quelques mm par jour). Elle résulte des mitoses qui se produisent dans le méristème racinaire situé dans la zone sub-apicale de la racine.

1. Réactifs

- Acide chlorhydrique 1 mol.L^{-1}

Dans une fiole jaugée de 1L, verser 914 mL d'eau distillée. Compléter à 1 L avec de l'acide chlorhydrique à 36 % (densité 1,178).

- Orcéine acétique, solution mère

- Dissoudre 1 g d'orcéine dans 45 mL d'acide acétique pur (attention danger de brûlure).
- Faire bouillir jusqu'à dissolution et laisser refroidir.
- Filtrer et conserver le filtrat au réfrigérateur.

- Solution diluée à préparer extemporanément

Mélanger 9 mL de solution mère avec 11 mL d'eau distillée et répartir dans des flacons compte-gouttes.

2. Mode opératoire

1. Prélever avec des ciseaux une jeune racine en croissance sur un bulbe. Couper le segment terminal à environ 5 mm de l'extrémité et le déposer sur une lame porte-objet. On doit observer près de l'extrémité le méristème qui forme une petite tache.
2. Recouvrir l'échantillon d'acide chlorhydrique à 1 mol.L^{-1}. Laisser agir 5 minutes pendant lesquelles l'acide hydrolyse le ciment pectique qui relie les parois cellulaires. Ceci facilitera ensuite la dissociation des cellules.

3. Enlever l'acide avec un essuie tout utilisé comme papier buvard en faisant attention de ne pas coller l'échantillon sur le papier.

4. Recouvrir l'échantillon d'une solution d'orcéine et laisser agir pendant 20 minutes.

5. Éliminer le colorant avec un essuie tout en faisant attention de ne pas entraîner l'échantillon.

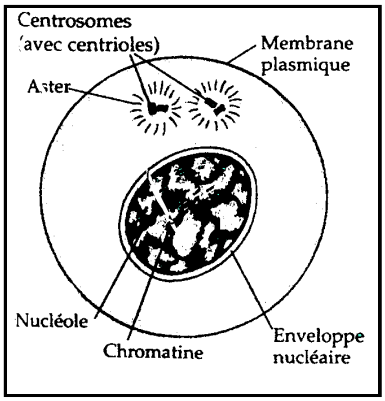
6. Recouvrir d'une goutte d'acide acétique à 45 % et poser une lamelle couvre-objet.

7. Appuyer doucement sur la lamelle (attention, fragile !) pour aplatir l'échantillon de façon à former une couche monocellulaire en déplaçant légèrement la lamelle tout en appuyant pour provoquer la dissociation des cellules.

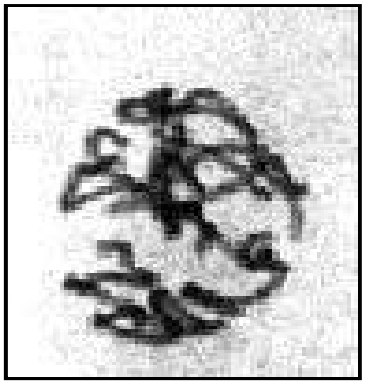
3. Travail demandé

Recherche, observation et dessin de quatre phases de mitose vegetales et dessin de deux stades au choix.

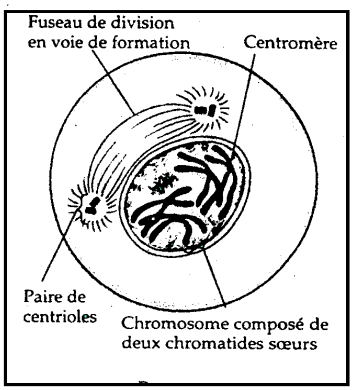
Fig. différentes phases de la mitose animale



PHASE G2 DE L'INTERPHASE

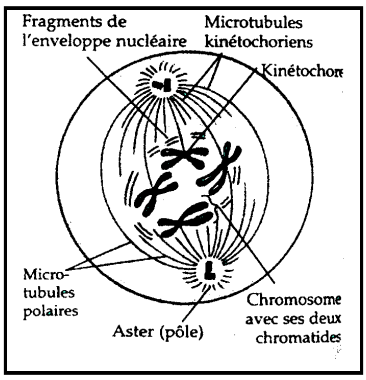


PROPHASE



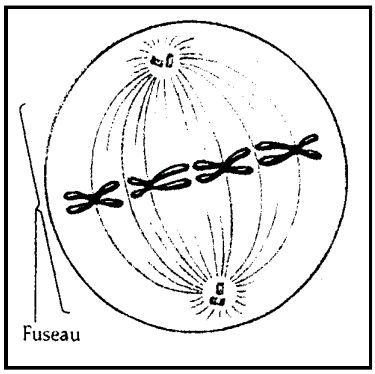


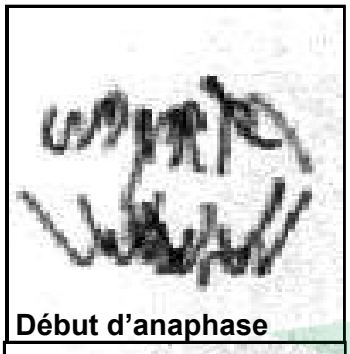
DEBUT DE METAPHASE



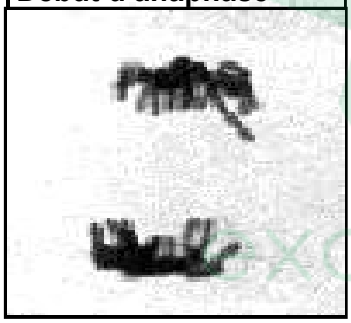


METAPHASE

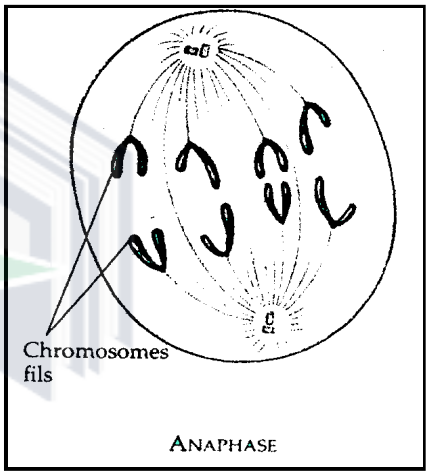


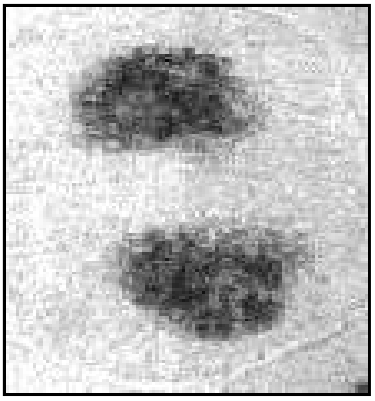


Début d'anaphase

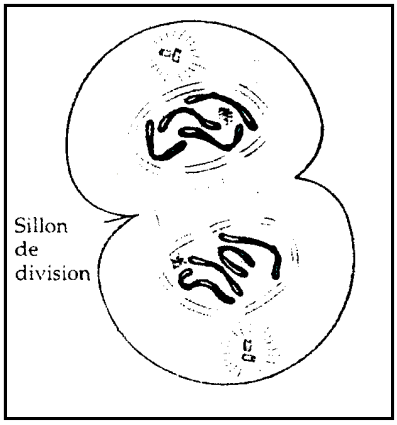


ANAPHASE





TELOPHASE ET CYTOKINESE



exosup.com page facebook

Séance IV

osmose et permeabilite cellulaire

TP 7. MISE EN EVIDENCE DES MOVEMENTS DE L'EAU DANS LA CELLULE VEGETALE

Introduction

Les cellules sont entourées par une mince pellicule, la membrane plasmique, à travers laquelle se réalisent les échanges. Cette membrane peut être :

- Semi-perméable lorsqu'elle ne laisse passer que le solvant.
- Perméable lorsqu'elle laisse passer le solvant et le soluté

Mais la perméabilité de la membrane est sélective c'est-à-dire qu'elle peut laisser passer certaines substances tout en étant imperméable à d'autres.

La perméabilité cellulaire dépend de plusieurs facteurs tels que le pH des solutions et la taille des substances dissoutes.

1. phenomene d'osmose

L'osmose désigne le phénomène qui entraîne la diffusion de l'eau à travers une membrane semi-perméable qui sépare deux solutions de concentration inégales en solutés. Dans ces conditions, l'eau a tendance à se déplacer de la solution la moins concentrée (solution HYPOTONIQUE) vers la solution la plus concentrée (solution HYPERTONIQUE). Les solutions qui contiennent des concentration égales de solutés sont dites ISOTONIQUES.

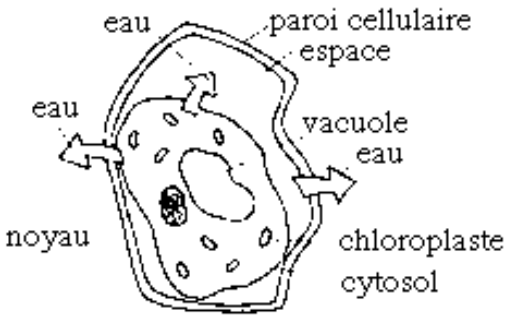
Le phénomène d'osmose est important chez les cellules pour le maintien de la concentration des solutés.

2. Matériel et réactifs

Eau distillée, oignon, solution de NaCl à 4% (ou saccharose à 300 g/L), solution de rouge neutre à 1g/L de tampon phosphate à pH 6,5, lames, verre de montre.

3. Principe

Lorsqu'on plonge une cellule végétale dans une solution **hypertonique**, une grande vacuole centrale se vide en partie de son eau et **la cellule se rapetisse**. La membrane cellulaire se décolle de la paroi ; on dit que la cellule est en **état de plasmolyse.** Lorsque la cellule se trouve dans une solution **hypotonique**, la vacuole s'enrichit en eau, la membrane repousse la paroi mais celle-ci empêche normalement la cellule d'éclater; on dit que la cellule est en **état de turgescence**. C'est la turgescence qui maintient les plantes herbacées dressées; en absence de turgescence, la plante se flétrit.



Plasmolyse d'une cellule végétale

4. Mode opératoire

1. Sur une écaille d'oignon, on prélève à l'aide d'un scalpel, des fragments d'épiderme de 1 cm de coté au maximum.

2. Etaler ces fragments pendant quelques minutes, dans un verre de montre contenant une solution de rouge neutre à 1 g/L. Observer au microscope et dessiner une cellule turgescente.

3. Au moyen d'un papier absorbant placé contre le bord gauche de la lamelle, aspirer le colorant et le remplacer par une goutte de NaCl à 4%. Recommencer cette opération jusqu'à ce que le liquide du montage ne renferme plus que du NaCl à 4%. Observer au microscope et dessiner une cellule plasmolysée.

4. Recommencer l'opération 3 mais remplacer le NaCl à 4% par l'eau pure. Attendre quelques minutes et observer le phénomène de déplasmolyse.

5. Interprétation des résultats

Dire simplement pour quelle raison les cellules d'oignon ont été modifiées.

Expliquer en utilisant la notion de pression osmotique les modifications des cellules observées.

Conclure sur le mécanisme biologique mis en jeu dans ce TP.